Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 235-251
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۵۱-۲۳۵
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله پژوهشی

مطالعه تأثیر فلزات سنگین کادمیم و سرب بر خصوصیات رشد و ویژگی‌های کیفی گیاه دارویی بادرنجبویه

سید محمدباقر رضوی نیا[۱]- نسیبه پورقاسمیان[۲]*- فرزاد نجفی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۰۳

چکیده

آلودگی خاک به فلزات سنگین به دلیل خطرات زیست محیطی که برای سلامت انسان دارد، در سال‌های اخیر مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. به منظور بررسی واکنش‌های زیستی گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) در شرایط تنش کادمیم و سرب، این مطالعه در طرح فاکتوریل و در قالب بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. کادمیم در چهار سطح (صفر، ۶، ۱۲ و ۲۴ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک) به عنوان فاکتور اول و سرب در چهار سطح (صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک) به عنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت کادمیم و سرب وزن خشک اندام هوایی و ریشه، میزان پروتئین، میزان فتوسنتز، سرعت تعرق و کارایی فلورسانس کلروفیل کاهش معنی‌دار یافت، با این وجود، این کاهش در حضور کادمیم بیش از سرب مشاهده شد. اثر متقابل دو عنصر نیز صفات مذکور را کاهش داد. همچنین میزان مالون دی آلدهید، درصد اسانس و پرولین با افزایش غلظت هر دو عنصر در محیط افزایش یافت. با اینحال اثر متقابل دو عنصر بر صفات مذکور نشان داد که همراهی دو عنصر با یکدیگر باعث کاهش اثر منفی هر یک از عناصر به تنهایی می‌شود. افزایش غلظت هریک از عناصر کادمیم و سرب به تنهایی غلظت همان عنصر را در بخش هوایی و ریشه به طور معنی‌داری افزایش داد و این مسئله بیانگر رابطه مستقیم بین مقدار فلز در محیط و جذب آن توسط گیاه است. غلظت کادمیم در بخش هوایی و ریشه در بالاترین سطح کادمیم (۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، به ترتیب ۱/۹۶و ۰/۹۸(میکروگرم بر گرم وزن خشک) گزارش شد. غلظت سرب در بخش هوایی و ریشه در بالاترین سطح آن (۴۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم خاک) به ترتیب ۳/۵۵ و ۲/۰۲ (میکروگرم بر گرم وزن خشک) گزارش شد. همچنین اثر متقابل دو عنصر نشان داد که افزایش کادمیم در محیط باعث کاهش غلظت سرب در گیاه شد و افزایش غلظت سرب در محیط باعث کاهش غلظت کادمیم در گیاه شد. هیچ یک از دو عنصر سرب و کادمیم در اسانس این گیاه مشاهده نشد. همچنین در سطوح ۱۲ و ۲۴ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک (سطوح بالای کادمیم)، افزایش غلظت سرب از ۱۵۰ به ۴۵۰ میلی‌گرم، فاکتور انتقال کادمیم را ۶/۹۷ و ۱۱/۲۶ درصد افزایش داد. از مطالعه حاضر می توان دریافت که به طور کلی، گیاه از کادمیم بیشتر از سرب آسیب دیده و اثر بازدارندگی کادمیم و سرب روی یکدیگر تقریباً در تمام صفات مشاهده شد، همچنین با توجه به عدم حضور عناصر در اسانس، شاید بتوان گیاه بادرنجبویه را به عنوان گزینه مناسبی جهت کشت در مناطق آلوده معرفی نمود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، پرولین و پروتئین، فلورسانس کلروفیل، سرعت تنفس

مقدمه

یکی از مهمترین مسائل مهم دهه‌های اخیر، آلودگی محیط زیست و مسائل مربوط به آن است. انسان در اثر فعالیت‌های روزمره خود (توسعه‌ی شهری، افزایش جمعیت و رشد منابع و استفاده بیش از حد از نهاده‌های کشاورزی و ...) مقادیر قابل توجهی از آلاینده‌های مختلف را به منابع آب، خاک و هوا وارد می‌کند. از بین آلاینده‌های موجود، تجمع عناصر سنگین به یک مشکل زیست محیطی جهانی تبدیل شده است (۶).

دوام بلند مدت زیست شناختی و باقی ماندن در خاک، سبب انباشته شدن این فلزات در خاک و زنجیره غذایی انسان می‌گردد. انواع

۱ و ۳- به‌ترتیب دانش آموخته دوره کارشناسی ارشد و استادیار گروه گیاهان دارویی، دانشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی تهران
۲- استادیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
(*- نویسنده مسئول: (Email: n.pourghasemian@uk.ac.ir
DOI: 10.22067/jhs.2021.61820.0

آلودگی های شیمیایی من جمله آلودگی به عناصر سنگین و اثرات مضر آن یکی از دلایل بسیار مهم بیماریهایی مثل سرطان است (۶).

سرب (Pb) عنصریست فلزی با عدد اتمی ۸۲، سمی، براق، انعطاف‌پذیر، بسیار نرم، شدیداً چکش خوار ،با حرکت کند در خاک، که باعث می‌شود بیشتر در سطح خاک انباشته شود (۲۲). کادمیم (Cd) عنصری شیمیایی با عدد اتمی ۴۸ و سمی که در خاک‌های آهکی غیر پویاست و در لایه های سطحی خاک تجمع پیدا می‌کند (۵). حد بحرانی حضور کادمیم در خاک ۳ و در گیاه ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و سرب در خاک ۱۰۰ و در گیاه ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد، که توسط نهادهای مختلفی معرفی شده است (۴۳).

از اثراتی که کادمیم و سرب، بر عملکرد و فیزیولوژی گیاه می گذارد می‌توان اشاره کرد به تخریب ساختار واکوئل، از بین رفتن دیواره‌ی سلولی و کاهش توسعه و فعالیت میتوکندری، کاهش موثر بر سیستم تعرق گیاهی،تخریب ساختار کلروفیل a و b، کاهش تعادل یونی در سیتوزول، که باعث کاهش فعالیت سیستم فتوسنتزی و در نهایت کاهش عملکرد گیاه می‌شود (۳).

همچنین از اثرات عناصر کادمیم و سرب بر فرآیندهای بیوشیمیایی گیاهان، می‌توان به کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی در غلظت‌های بالا اشاره کرد که احتمالا به دلیل غیرفعال شدن آنزیم‌ها توسط *ROS* و کاهش سنتز آنزیم و یا تغییر در اجتماع زیر واحدهای آنزیم می‌باشد (۳۰).

از طرفی غلظت‌های بالای این عناصر سمی در گیاه، ممکن است به طرق مختلف در رشد گیاه تداخل ایجاد نماید. از جمله این اختلالات، کاهش فعالیت‌های آنزیمی، اختلال در فتوسنتز بسته شدن روزنه‌ها و ممانعت از جذب عناصر غذایی (۴۹) می‌باشد.

از طرفی، بر اساس نظر برخی محققین با افزایش میزان کادمیم، تغییری در وزن خشک و عملکرد اسفناج مشاهده نشده است (۱۶).

همچنین بر اساس برخی پژوهش‌ها مانند پژوهشی که بر روی نعناع فلفلی انجام شد، غلظت ۰/۱۲ و ۶/۱ پی‌پی‌ام تاثیری بر درصد اسانس نعناع فلفلی نداشته است. از طرفی زلجاسکو و نیلسون (۵۳) نیز گزارش کردند که طی تنش کادمیم و سرب و مس و روی، عملکرد اسانس و عملکرد وزن تر گیاه کاهش یافته است.

گیاهان داروئی به طورکلی دربرگیرنده همه انواع گیاهان اعم از داروئی، ادویه ای، معطر و... می‌باشد اما طبق تعریف سازمان بهداشت جهانی[1]، گیاهان دارویی به گیاهانی گفته می‌شود که تمام یا بخشی از آن، حاوی مواد موثری باشد که به دور از طی کردن مراحل ساخت صنعتی، بتواند تاثیرات درمانی مفیدی برای بدن داشته باشد و با تنظیم فعالیت دستگاه‌های مختلف بدن به درمان بیماری‌ها کمک کند. البته از بین تمامی گونه‌های شناخته شده‌ی گیاهان فقط ۰/۲ درصد آنها توانایی گیاه پالایی[2]را دارند (۸).

گیاه دارویی بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* از خانواده نعناع، گیاهی علفی، پایا، چند ساله دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بوده و حاوی آلفا توکوفرول سیترال، ژرانیول، لینالول و استات اوژنول، بتا کاریو فیلن می‌باشد (۳۳ و ۱۲). این گیاه به کمبود آهن در خاک حساس بوده، همچنین با توجه به ریشه‌های افشانی که دارد در برابر کم آبی نمی‌تواند زیاد دوام بیاورد (۳۳).

در مطالعه‌ای که توسط یعقوبیان و همکاران (۵۰) در بررسی پاسخ مولفه‌های فلورسانس کلروفیل بادرنجبویه در ۱۲ غلظت کادمیم از ۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک انجام شد، مشخص گردید که غلظت‌های بالاتر از ۳۰ میلی‌گرم باعث آسیب جدی به فرایندهای فتوسنتزی و کاهش اسیمیلاسیون کربوهیدرات‌ها، آسیب به فتوسیستم I و II و درنتیجه حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II و افزایش خاموشی غیرفتوشیمیایی می‌شود. بااینحال پینتو و همکاران (۳۴) در مطالعه‌ای، غلظت عناصر کادمیم و سرب را در اندام رویشی هفت گیاه دارویی در پنج منطقه آلوده به عناصر سنگین بررسی کردند و نشان دادند که بادرنجبویه علاوه بر جذب غلظت بالایی از عناصر موجود عملکر قابل قبولی داشت. همچنین در مطالعه‌ای دیگر (۴) مصرف ۱۰۰ درصد پساب تصفیه شده از منطقه شهرکرد برای گیاه بادرنجبویه توصیه شد. در این تحقیق غلظت کادمیم و سرب موجود در گیاه، کمتر از حد مجاز آن گزارش شد و گیاه بادرنجبویه به عنوان یک گیاه مقاوم به شرایط موجود معرفی شد.

بنابراین با توجه به مطالعات اندک (۴، ۳۴ و ۵۰) صورت گرفته بر پاسخ این گیاه به تنش فلزات سنگین کادمیم و سرب، مطالعه حاضر با هدف بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی بادرنجبویه و میزان جذب عناصر سنگین فوق در این گیاه صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. عامل بلوک بندی شدت نور بود. مطالعه در گلخانه‌ی پژوهشی دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان در سال ۹۷ انجام شد. فاکتورها شامل کادمیم در چهار سطح صفر، ۶، ۱۲و ۲۴ (میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و سرب در چهار سطح صفر، ۱۵۰، ۳۰۰و ۴۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، در نظر گرفته شدند. لازم به ذکر است که تعیین غلظت‌ها با توجه به گزارشات و انجام یک پیش آزمایش صورت گرفته است.

ابتدا خاک ها را به منظور تامین مواد غذایی گیاه به نسبت ۱/۴ با

1- World Health Organization (WHO)

2- Phytoremediation

خاک برگ و کود (به عنوان فاز واحد) مخلوط کرده، سپس میزان کلرید کادمیم و کلرید سرب لازم برای رساندن خاک به غلظت‌های تعیین شده، توزین و به خاک اضافه شد. خاک آلوده با حفظ رطوبت در حد FC (ظرفیت مزرعه) به مدت دو ماه در محیطی مناسب انکوبه گردید.

بذرها (تهیه شده از شرکت سیکاس) در محلول ۱ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ده دقیقه ضدعفونی شدند و در سینی نشا کشت گردیدند. سپس گیاهچه‌ها در مرحله‌ی سه تا چهار برگی به گلدان‌های حاوی خاک آلوده انتقال داده شدند. آبیاری با روش وزنی و تا رساندن گلدان به نقطه‌ی FC صورت گرفت، همچنین به منظور جلوگیری ازشسته شدن فلزات سنگین و کاهش غلظت آنها در محیط رشد ریشه در زیر هر گلدان یک عدد زیرگلدانی قرار گرفت تا در صورت خروج زه آب محتوی زیرگلدانی‌ها به هرگلدان اضافه شود.

برداشت گیاهان بادرنجبویه بعد از گذشت حدود یک ماه و نیم از تاریخ انتقال به گلدان صورت گرفته، به گونه ای که گیاه تازه وارد مرحله‌ی گلدهی شده باشد. اندام هوایی گیاه از سطح خاک بریده شده و سپس ریشه‌ها با دقت از خاک بیرون آورده شد. نمونه‌هایی که برای تعیین صفات مرتبط با وزن خشک مورد نیاز بودند، در آون با دمای ۱۰۸ در جه سلسیوس و به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. مقداری از مواد گیاهی مورد نیاز برای اندازه‌گیری غلظت مالون دی آلدهید، پرولین در نیتروژن مایع، منجمد شد و سپس در فریزر ۸۰- تا زمان اندازه‌گیری صفات نگهداری شدند.

مقدار فلورسانس کلروفیل گیاهان شاهد و گیاهان تحت تنش با استفاده از دستگاه فلورومتر (PAM -2500;Hansatech) اندازه‌گیری شد. از هر گیاه دو برگ کاملا توسعه یافته، انتخاب و به مدت ۳۰ دقیقه در بین گیره‌های دستگاه جهت سازگاری با تاریکی قرار داده شد و سپس میزان فلورسانس کلروفیل ثبت گردید (۲۹). برای تعیین میزان نرخ خالص فوتوسنتز و تعرق، در واحد سطح برگ از دستگاه فتوسنتز متر (IRGA) مدل (Korea tech) استفاده شد. برای این صفت نیز دو برگ کاملا توسعه یافته، انتخاب گردید و اندازه گیری‌ها بین ساعت ۱۰ صبح تا ۱۲ صبح صورت گرفت.

برای اسانس‌گیری ۳۰ گرم از سرشاخه‌های خشک شده آسیاب شدند. استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت چهار ساعت و در شرایط کاملاً یکسان انجام شد.

اندازه‌گیری عناصر کادمیوم و سرب در اسانس گیاه از طریق روش پیشنهادی ژلجازکوف و همکاران (۵۵) صورت گرفت. به اسانس حاصل از کلونجراجازه داده شد تا تبخیر شود به طوری‌که تنها روغن ته ظرف باقی بماند. سپس باقیمانده اسانس که کربونیزه شده بود به مدت ۴ ساعت در دمای ۴۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از سرد شدن، ۲ میلی‌لیتر نیتریک اسید غلیظ روی آن ریخته شد و به مدت یک ساعت داخل بلوک‌های حرارتی قرار گرفت. سپس برای اندازه گیری عناصر مذکور از تکنیک ICPMS استفاده شد.

اندازه‌گیری عناصر در اندام هوایی و ریشه و فاکتور انتقال بر اساس روش لیم و همکاران (۲۶) و با استفاده از دستگاه جذب اتمی شعله‌دار (SpectraA 55B, varian) اندازه‌گیری شد. نمونه‌های گیاهی با استفاده از بلوک‌های حرارتی به کمک اسید نیتریک هضم تر گردید. فاکتور انتقال (TF) شامل نسبت کادمیم بخش هوایی به کادمیم در ریشه است که طبق رابطه ۱ محاسبه شد

رابطه ۱

مقدار کادمیم ریشه / مقدار کادمیم در بخش هوایی =TF

غلظت مالون‌دی‌آلدهید نیز به روش هیث و پاکر (۲۱) اندازه‌گیری شد. طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت تازه برگی در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد سائیده شد. عصاره به‌دست آمده به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. به یک میلی‌لیتر از محلول رویی، ۴ میلی‌لیتر محلول *TCA* یک دهم درصد، که حاوی ۰/۵ درصد تیورباربیتوریک‌اسید بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه درون حمام آب گرم و پس از آن بلافاصله در یخ سرد شده و سپس مجدداً به مدت ۵ دقیقه در۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. برای حذف اثر ترکیبات اضافی، جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر از جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۵ نانومتر کسر شد. ازمحلول تریکلرواستیک اسید۴۰درصد برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر Spekol 2000- Germany در طول موج ۵۳۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر استفاده شد. برای محاسبه‌ی غلظت مالون دی آلدهید از ضریب خاموشی معادل ۱۵۵ $mM^{-1}cm^{-1}$ استفاده گردید و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب وزن تر طبق رایطه ۲ محاسبه و ارائه شد.

رابطه ۲:

MDA :[(A532-A600)]*DF*X*1000*F.W*ε

MDA= [A532-A600]*DF*x*1000*F.W*ε]

که در این رابطه A= مقدار جذب در یک طول موج مشخص، DF= Dilution Factor یا فاکتور رقت (در اینجا=۵)، X= درصدی از TCA که برای استخراج استفاده می‌شود، ε = ضریب خاموشی معادل ۱۵۵ $mM^{-1}cm^{-}$ و F.W= وزن نمونه تر گیاه است.

همچنین برای اندازه‌گیری پرولین از روش بیتس (۱۹۷۴) در طول موج ۵۲۰ نانومتر استفاده شد.

تجزیه واریانس داده ها با برنامه‌ی SAS (۹,۱) صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام شد.

نتایج و بحث

وزن خشک اندام هوایی و ریشه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه بادرنجبویه تحت تاثیر اثر ساده کادمیم، سرب و اثر متقابل دو عنصر مذکور در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۱).

با افزایش غلظت کادمیم تا ۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، نسبت به عدم حضور کادمیم، به ترتیب ۷۹ و ۷۳ درصد کاهش پیدا کرد. همچنین با افزایش میزان سرب تا ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، نسبت به عدم حضور سرب، به ترتیب ۴۵ و ۴۱ درصد کاهش پیدا کرد. (جدول ۲). به نظر می‌رسد، کاهش در وزن خشک اندام هوایی و ریشه، بیشتر توسط کادمیم نسبت به سرب صورت گرفت. از دیدگاه فیزیولوژی می‌توان اینگونه بیان نمود که به دلیل تحرک بیشتر کادمیم نسبت به سرب، همراه آب و شیره‌ی گیاهی، کادمیم بیشتر از سرب به اندام هوایی فرستاده می‌شود و در نتیجه مسمومیت بیشتری نسبت به سرب در اندام هوایی ایجاد می‌کند (۱).

کاهش رشد ناشی از سمیت عناصر سنگین، به علت کاهش فتوسنتز و تنفس (۳۱) و کاهش متابولیسم کربوهیدرات و آسیب به برخی آنزیم‌های فتوسنتزی مخصوصا آنزیم‌هایی که در چرخه‌ی کلوین و بیوسنتز کلروفیل نقش دارند همراه می‌باشد و ایجاد نکروزه[1] و کلروزه[2] می‌کند (۳۵ و ۴۰).

مطالعه‌ی انجام شده توسط قانی و همکاران (۱۹) به کاهش معنی دار وزن خشک اندام هوایی لوبیا در اثر مصرف غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک اشاره دارد. همچنین کاهش وزن ریشه و شاخساره در گیاه گوجه فرنگی و بادمجان در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک گزارش شده است (۲۴).

بررسی اثر متقابل کادمیم و سرب بر وزن خشک نشان داد، حداکثر کاهش وزن خشک در ریشه و در اندام هوایی در تیمار ۲۴ کادمیم و ۴۵۰ سرب رخ داده است. این کاهش نسبت به شاهد، در ریشه ۹۰ درصد و در اندام هوایی ۸۷ درصد نشان داده شده است. به نظر می‌رسد سمیت ناشی از اثرات متقابل دو عنصر سمی، باعث تشدید اثرات، نسبت به حالت منفرد شده است (نمودار ۱ و ۲). نتایج پژوهشی در گیاه گندم نشان داد که حداکثر کاهش وزن خشک، تحت تنش اثر متقابل کادمیم و سرب، زمانی رخ می‌دهد که حداکثر غلظت عناصر در محیط باشد (۵۲).

در برخی مطالعات نیز عدم تاثیر معنی‌دار عناصر فلزی بر وزن خشک گیاه گزارش شده است. در پژوهش انجام شده روی نعناع فلفلی و ریحان، وزن خشک گیاه، تحت تاثیر غلظت‌های ۱۰ پی‌پی‌ام کادمیم و ۱۰۰ پی‌پی‌ام سرب قرار نگرفت (۵۳). این تفاوت در پاسخ بین گیاهان معمولا به ژنتیک گیاه مورد بررسی، غلظت‌های مورد استفاده برای گیاهان و شرایط پژوهش برمی‌گردد. همچنین به نظر می‌رسد، کاهش در وزن خشک اندام هوایی و ریشه، بیشتر توسط کادمیم نسبت به سرب صورت گرفت. از دیدگاه فیزیولوژی می‌توان اینگونه بیان نمود که به دلیل تحرک بیشتر کادمیم نسبت به سرب، همراه آب و شیره‌ی گیاهی، کادمیم بیشتر از سرب به اندام هوایی فرستاده می‌شود و در نتیجه مسمومیت بیشتری نسبت به سرب در اندام هوایی ایجاد می‌کند (۱).

درصد اسانس

تیمار کادمیم و سرب تاثیر معنی‌داری ($P>0.01$)، بر درصد اسانس نداشت. با این حال این صفت تحت تاثیر اثرات متقابل کادمیم و سرب قرار نگرفت (جدول ۱).

با افزایش غلظت کادمیم از شاهد به ۲۴ میلی‌گرم به کیلوگرم خاک، درصد اسانس ۴۷ درصد و با افزایش غلظت سرب از شاهد به ۴۵۰ میلی‌گرم به کیلوگرم خاک، این صفت ۲۵ درصد افزایش نشان داد (جدول ۲).

حضور عناصر سنگین در مقادیر کم، در گیاه باعث افزایش متابولیت ثانویه و در نهایت افزایش تولید اسانس شده است. با این‌حال گزارش هایی متفاوت در این زمینه وجود دارد. رایی و همکاران (۳۸) نشان دادند که حضور کروم در محیط منجر به افزایش اوژنول و در نهایت اسانس گیاه ریحان می‌شود، به گونه‌ای که با افزایش غلظت کروم از شاهد به ۱۰ و ۲۰ میکرو مولار، افزایش ۱۵ و ۲۵ درصدی نسبت به شاهد وجود داشته و با بالا رفتن غلظت کروم به ۱۰۰ میکرو مولار میزان اژنول ۴ درصد افزایش پیدا کرده است. در حالی‌که در مطالعه‌ای دیگر زلجازکف و نیلسون (۵۳) گزارش کردند که حضور سرب و کادمیم در محیط، باعث کاهش درصد اسانس گیاه نعناع فلفلی می‌شود. به طور کلی ترپنوئیدهای موجود در غده های اپیدرمی گیاهان حاوی اسانس، مصرف کننده‌ی کربنی است که از طریق فتوسنتز بدست می‌آید. در نتیجه سنتز اسانس درغده‌های اپیدرمی تابع تامین مداوم کربن فتو سنتزی است و اختلال در تغذیه کربن توسط عناصر سنگین می‌تواند باعث کاهش مقدار درصد اسانس شود (۴۵).

نکته قابل توجه دیگر در رابطه با تاثیرپذیری اسانس از عناصر سرب و کادمیم در مطالعه حاضر این بود که عناصر کادمیم و سرب در اسانس گیاه بادرنجبویه یافت نشد (اعداد نشان داده نشده است). گزارش‌های مختلفی مبنی بر تولید اسانس عاری از فلزات سنگین در گیاهان دارویی کشت شده در خاک‌های آلوده وجود دارد (۲۲ و ۵۴).

1- Necrotic
2- chlorosis

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات عملکردی و فیزیولوژیکی گیاه بادرنجبویه تحت اثر تیمار جداگانه سرب و کادمیم

Table 1- ANOVA (mean square) for biomass and physiological traits of lemon balm affected by indevidual application of Cd and Pb

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	وزن خشک ریشه Root dryweight	وزن خشک اندام هوایی Shoot dryweight	نرخ خالص فتوسنتز PAR	درصد اسانس Essential oil (%)	فلورسانس Fv/Fm	سرعت تعرق Transpiration rate	غلظت کادمیم ریشه Root Cd concentration	غلظت کادمیم اندام هوایی Shoot Cd concentration	غلظت سرب ریشه Root Pb concentration	غلظت سرب اندام هوایی Shoot Pb concentration	فاکتور انتقال کادمیم TF (Cd)	پرولین Prolin	مالون دی آلدهید MDA
R تکرار	2	0.062 ns	0.307ns	2.36 ns	0.000007 ns	0.001 ns	0.000006 ns	1.80ns	0.013ns	121.7ns	2.67ns	0.001ns	2.37ns	22.88ns
Cd کادمیم	3	32.75**	70.50**	42.07**	0.020**	0.891**	0.672**	4594.4**	688.0**	75611.5**	394. 7**	0.056**	103.7**	1724.0**
Pb سرب	3	6.76**	15.15**	14.78*	0.007**	0.408**	0.352**	166.4**	30.74**	81578.2**	5731.9**	0.014**	278.9**	391.3**
Cd×Pb سرب×کادمیم	9	0.440**	0.731*	3.68ns	0.0002ns	0.0002ns	0.024ns	24.28**	7.44**	10689.9*	93.70**	0.016**	11.20**	27.19*
Total Error خطای کل	60	0.016	0.150	1.87	0.0004	0.0003	0.026	3.03	0.710	84.33	10.95	0.003	5.16	5.19
CV (%) ضریب تغییرات		4.30	7.94	9.41	9.02	3.41	10.53	7.40	8.67	7.62	12.79	7.16	6.35	5.45

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and **: non-significant and significant in the level of 5% and 1%, Respectively.

Cd و Pb: به ترتیب تیمارهای کادمیم و سرب

Cd, Pb: Cadmium and Lead element application, Respectively.

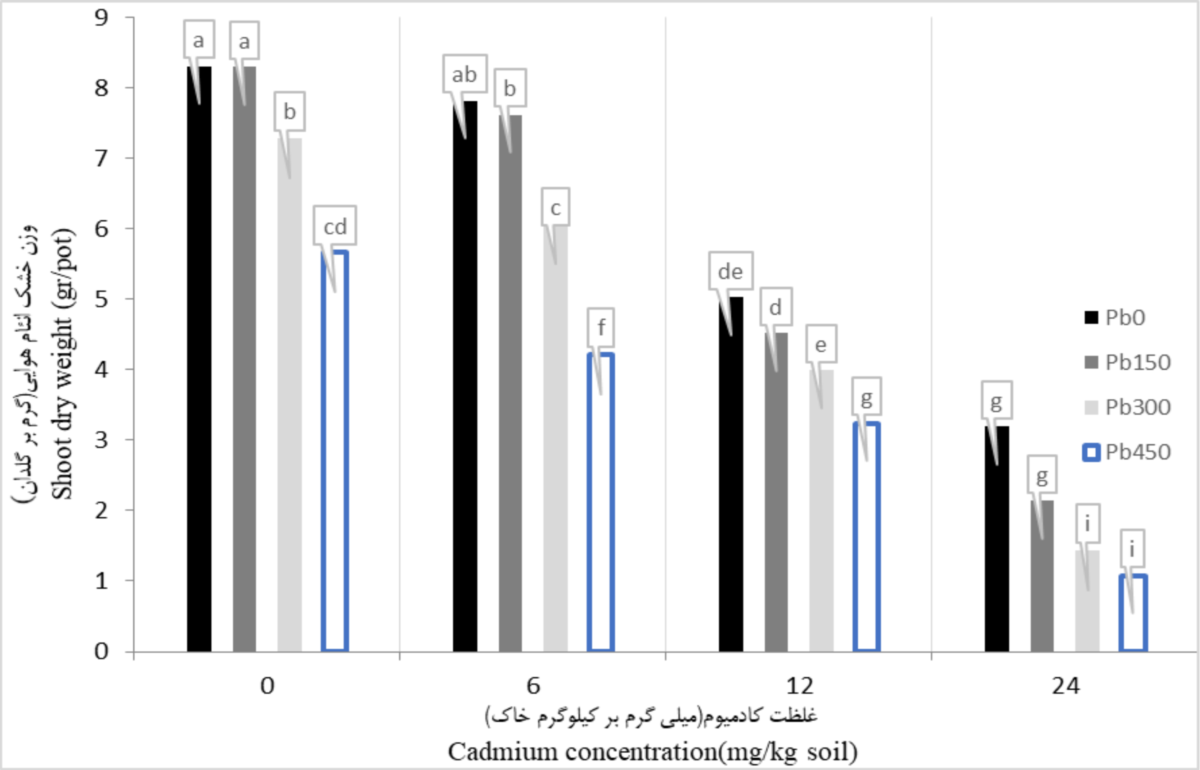
جدول ۲- اثر تیمار جداگانه سرب و کادمیم برصفات عملکردی و فیزیولوژیکی گیاه بادرنجبویه

Table 2– The effect of Cd and Pb on yield and physiological traits of lemon balm

تیمارها ($mg.kg^{-1}$)	وزن خشک ریشه Root DW ($\mu g.g^{-1}$ DW)	وزن خشک اندام هوایی Shoot DW ($\mu g.g^{-1}$ DW)	نرخ خالص فتوسنتز PAR	درصد اسانس Essential oil (%)	فلورسانس Fv/Fm	سرعت تعرق Transpiration rate $mmH_2O.m^{-2}.s^{-1}$	غلظت کادمیم ریشه Cd root concentration ($\mu g.g^{-1}$ biomass)	غلظت کادمیم اندام هوایی Cd shoot concentration ($\mu g.g^{-1}$ biomass)	غلظت سرب ریشه Pb root concentration ($\mu g.g^{-1}$ biomass)	غلظت سرب اندام هوایی Pb shoot concentration ($\mu g.g^{-1}$ biomass)	فاکتور انتقال کادمیم TF(Cd)	پرولین Prolin ($\mu mol.g^{-1}$ FW)	مالون دی آلدهید MDA ($\mu mol.g^{-1}$FW)
کادمیم Cd													
0	4.72 ^{a}	7.39 ^{a}	16.27^{a}	0.200^{d}	0.650^{a}	1.77^{a}	31.88 ^{a}	0.774 ^{b}	1.92 ^{d}	0.95 ^{d}	168.32 ^{a}	23.88^{d}	30.67^{d}
6	3.88 ^{b}	6.42 ^{b}	15.55^{a}	0.227^{c}	0.622^{b}	1.65^{a}	28.65 ^{b}	0.680 ^{c}	15.55 ^{c}	6.30 ^{c}	162.32 ^{a}	30.68^{c}	33.90^{c}
12	2.40 ^{c}	4.19 ^{c}	14.35^{b}	0.262^{b}	0.572^{c}	1.50^{b}	24.31 ^{c}	0.874 ^{a}	28.69 ^{b}	13.84 ^{b}	146.27 ^{b}	37.61^{b}	45.42^{b}
24	0.98 ^{d}	1.96 ^{d}	12.00^{c}	0.295^{a}	0.455^{d}	1.32^{c}	18.63 ^{d}	0.768 ^{b}	47.85 ^{a}	17.87 ^{a}	133.67 ^{c}	47.33^{a}	57.02^{a}
سرب Pb													
0	3.71 ^{a}	6.08 ^{a}	15.65^{a}	0.222^{c}	0.632^{a}	1.70^{a}	2.92 ^{d}	0.774 ^{b}	27.89 ^{a}	11.58 ^{a}	4.10 ^{d}	31.10^{d}	36.35^{d}
150	3.44 ^{b}	5.64 ^{b}	15.32^{a}	0.232^{bc}	0.607^{b}	1.65^{a}	16.02 ^{c}	0.680 ^{c}	24.85 ^{b}	10.32 ^{b}	90.50 ^{c}	33.20^{c}	38.76^{c}
300	2.81 ^{c}	4.69 ^{c}	13.80^{b}	0.250^{b}	0.560^{c}	1.45^{b}	30.60 ^{b}	0.847 ^{a}	22.05 ^{c}	9.24 ^{c}	231.75 ^{b}	36.67^{b}	42.47^{b}
450	2.02 ^{d}	3.55 ^{d}	13.40^{c}	0.280^{a}	0.500^{d}	1.32^{c}	53.92 ^{a}	0.768 ^{b}	19.22 ^{d}	7.82 ^{d}	284.25 ^{a}	42.13^{a}	49.44^{a}

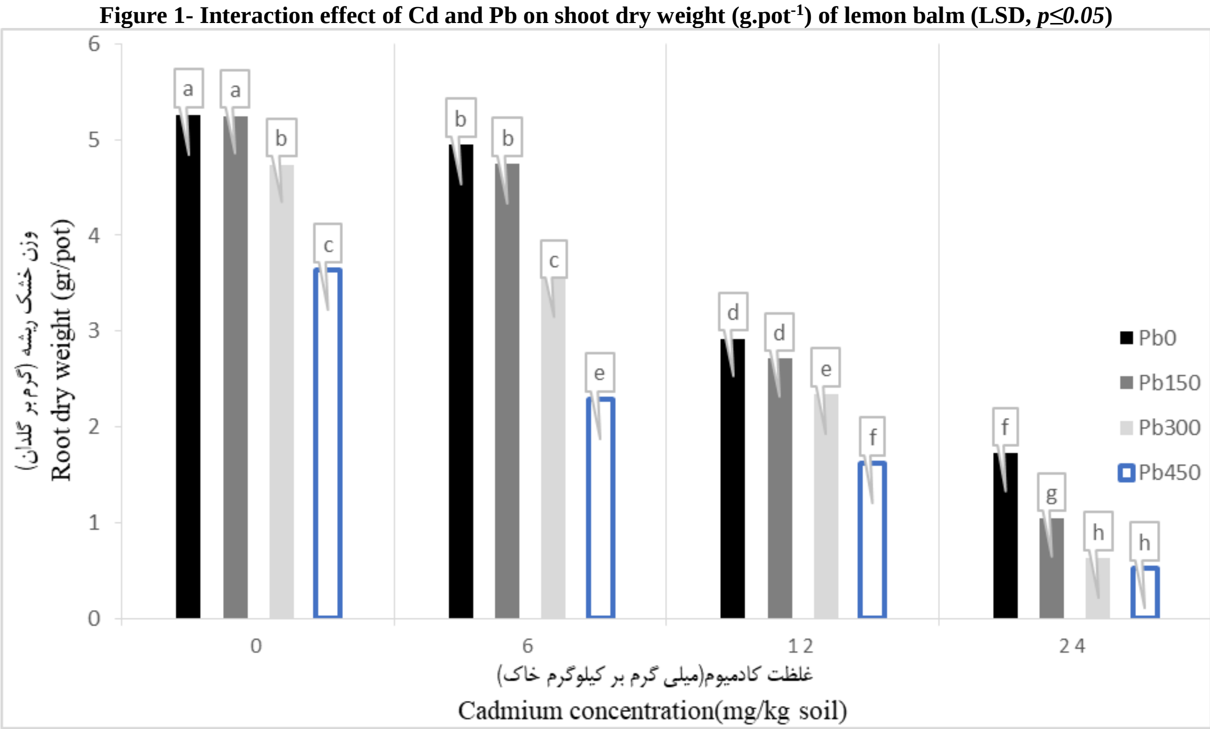
برای هر تیمار، حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD نمی‌باشد.

For each treatment, column means with the same letter are not significantly different by LSD test ($P< 0.05$)



شکل ۱- اثر متقابل کادمیم × سرب بر وزن خشک اندام هوایی (گرم /گلدان) گیاه بادرنجبویه

Figure 1- Interaction effect of Cd and Pb on shoot dry weight (g.pot^{-1}) of lemon balm (LSD, *p≤0.05*)



شکل ۲- اثر متقابل کادمیم × سرب بر وزن خشک ریشه (گرم /گلدان) گیاه بادرنجبویه

Figure 2- Interaction effect of Cd ×Pb on Root dry weight (g.pot^{-1}) of lemon balm (LSD, *p≤0.01*)

اسکاورونی و همکاران (۴۱) معتقدند که نعناع فلفلی می‌تواند بدون نگه داشتن عناصر سنگین در اسانس خود به عنوان یک پالایشگر سبز استفاده شود.

فلورسانس کلروفیل

تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی نشان داد که اثر ساده کادمیم و سرب بر میزان فلورسانس کلروفیل، معنی‌دار شد ($P>0.01$)، درحالی‌که اثر متقابل کادمیم و سرب بر تغییرات فلورسانس معنی‌دار نبوده است (جدول ۱). با افزایش کادمیم و سرب، میزان فلورسانس کلروفیل کاهش یافت. به طوری‌که کمترین میزان فلورسانس کلروفیل در حضور بالاترین غلظت کادمیم (۲۴) و بالاترین غلظت سرب (۴۵۰) به ترتیب ۰/۴۵و ۰/۵۰ گزارش شده و بیشترین مقدار آن ۰/۶۵۰ در تیمار شاهد بود (جدول ۲). با افزایش غلظت کادمیم از صفر به ۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، مقدار فلورسانس از ۰/۶۵۰ به ۰/۴۵۵ تقلیل پیدا کرد. همچنین در حضور سرب در محیط، در زمانی که غلظت سرب از صفر به ۴۵۰ افزایش می‌یابد، میزان فلورسانس از ۰/۶۳۲ به ۰/۵۰۰ می‌رسد که ناشی از اثر منفی حضور عناصر سنگین در محیط است (جدول ۲).

یکی از دلایلی که منجر به غیر فعال شدن یا کاهش fv/fm می شود حرکت کند چرخه‌ی انتقال الکترون، به دلیل آسیب به زنجیره انتقال الکترون در فتوسیستم دو است که به دلیل کاهش ظرفیت کوئینون آ بوده است (۵۶).

Fv/Fm به عنوان شاخصی معتبر برای نشان دادن بروز تنش در مراکز فتوشیمیایی و بازدارندگی نوری است زیرا که نشان دهنده‌ی ظرفیت انتقال الکترون در فتوسیستم دو می‌باشد (۲۹).

در پژوهشی که بر روی گیاه گلرنگ انجام شد کاهش نسبت Fv/Fm با افزایش کادمیم از سطح یک میلی گرم به پنج و ده میلی گرم بر کیلوگرم خاک گزارش شد. پژوهشگران فوق برای ژنوتیپ‌های حساس کاهش بیشتری در نسبت Fv/Fm به ازای افزایش کادمیم را گزارش کردند (۳۶). با این حال میپاپازوگلو و همکاران (۲۸) به عدم تاثیر غلظت کادمیم تا سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بر میزان فلورسانس گیاه *Arundo donax* اشاره کرد.

فتوسنتز خالص

نتایج جدول تجزیه واریانس در گیاه بادرنجبویه، اثر کادمیم را بر نرخ فعال فتوسنتز در سطح ۱درصد و اثر سرب را بر این فاکتور در سطح ۵ درصد معنی‌دار نشان داد. این در صورتیست که حضور همزمان کادمیم و سرب باهم در محیط کشت گیاه، اثر معنی‌داری بر نرخ فعال فتوسنتز نداشته است (جدول ۱).

کادمیم، در محیط کشت بادرنجبویه، منجر به کاهش ۲۶ درصدی فتوسنتز از شاهد (۱۶/۲۷) به غلظت ۲۴ (۱۲) شده است. این در حالیست که تفاوت معنی‌داری بین غلظت ۶ کادمیم و شاهد وجود نداشت ($P>0.05$). همچنین، سرب در محیط کشت بادرنجبویه باعث کاهش ۱۴ درصد در سرعت فتوسنتز از شاهد به غلظت ۴۵۰ شده است (جدول ۲).

کاهش در نرخ خالص فتوسنتزی نشان دهنده‌ی بالا بودن دی اکسید کربن در اتاقک زیر روزنه‌ای بوده و یا می‌تواند به دلیل بالا بودن تنفس گیاه بوده باشد که عموما در گیاهانی که تحت تنش عناصر سنگین هستند، رخ می‌دهد (۳۹). کاهش Pn به همراه افزایش فلزات سنگین که در مطالعه حاضر مشاهده شد، با ی روی لوبیا تحت تاثیر منگز (۴۶) مطابقت داشت. اسکورزینسکا و بازینسکی (۴۵) گزارش مشابهی، کاهش فتوسنتز تحت تنش عناصر سنگین را مربوطه به تاثیر این عناصر بر واکنش‌های تاریکی در گیاه دانسته‌اند. بااینحال میلادینوا و همکاران (۳۰) افزایش نرخ فعال فتوسنتز را در دو لاین از کالوس درخت پلونیا گزارش کرده است.

نتایج پژوهشی بر روی خیار نشان داد که در غلظت کادمیم ۵۰ میکرو مولار، کاهش معنی‌داری نسبت به کادمیم ۲۰ میکرومولار، در میزان فتوسنتز وجود داشته و کاهش ایجاد شده در غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار سرب، منتج به کاهش Pn، به کمتر از کادمیم ۵۰ میکرومولار و بیشتر از کادمیم ۲۰ میکرومولار شده است (۱۱). این نتایج حاکی از سمیت بیشتر کادمیم نسبت به سرب است و در نهایت اثر منفی بیشتر آن، که تایید کننده‌ی نتایج مطالعه‌ی حاضر است.

تعرق

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که تعرق گیاه بادرنجبویه تحت تاثیر، اثر ساده کادمیم و سرب قرار گرفت ($P>0.01$). اما در زمان بروز اثر متقابل دو عنصر کادمیم و سرب در گیاه، تفاوت معنی داری ثبت نشده است (جدول ۱).

بررسی نتایج مقایسه میانگین در حضور کادمیم در محیط، کاهش ۳۱ درصد میزان تعرق در غلظت ۲۴ به نسبت شاهد بادرنجبویه نشان داد. همچنین در حضور سرب در محیط، از غلظت ۴۵۰ سرب به نسبت شاهد، حدود ۲۲ درصد کاهش گزارش شده است (جدول ۲).

کاهش تعرق تحت فعالیت غلظت‌های مختلف عناصر کادمیم و سرب و روی، در درخت پالونیا *Paulownia tomentosa* مشاهده شده است. این کاهش تعرق در کادمیم بیشتر از سرب و روی، گزارش شده است (۳۰). مطالعات بر روی سویا نشان داد که سمیت سرب باعث القاء تغییرات هیستولوژیک[1] در برگ‌ها شده که برگ‌ها نازکتر شده و تعرق کمتر می‌شود. همچنین آوندهای چوب و آبکشی در دستجات آوندی کوچک شده و قطر آوندهای چوبی کاهش می‌یابد (۱۷).

اثرگذاری عناصر سنگین بر تعرق گیاه به نوع یون فلزی، غلظت عنصر سمی، مرحله‌ی رشدی گیاه، ترکیب عناصر در محیط کشت (آنتاگونیستی و سینرژیستی) و نوع تغذیه گیاه بستگی دارد (۱۰).

1- *Histologic*

مالون دی آلدهید

بررسی نتایج تجزیه‌ی واریانس نشان داد که کـادمیم و سـرب (۱ درصد) و اثر متقابل کادمیم و سرب (۵ درصد) میزان مالون دی‌آلدهید را به طور معنی‌داری تحت تاثیر قرار دادند (جدول ۱).

با افزایش میزان غلظت کادمیم از سطح صفر به ۲۴ میلی‌گـرم در کیلوگرم خاک، میزان مالون دی آلدهید که معیاری از فروپاشی غشای داخلی گیاه است، از ۳۰/۶۷ به ۵۷/۰۲ میکرومول بر گرم وزن تر گیاه رسید. همچنین در شرایط حضور سرب در محیط بـا افـزایش غلظـت سرب در محیط از ۰ تا ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک میـزان مـالون دی آلدهید از ۳۶/۰۵ به ۴۹/۴۴ میکرومول بر گرم وزن تر گیاه رسید. (جدول ۲). به نظر می‌رسد کادمیم بیش از سرب توانسته است میـزان مالون دی آلدهید را تحت تاثیر قرار دهد. نتایج حاصل از عملکرد گیاه نیز گویای این واقعیت بود.

افزایش تنش با ایجاد تغییر در اسیدهای چرب غیراشباع بر ساختار و ویژگی‌های غشاء سلولی اثر گذاشته و باعث افزایش ایجـاد رادیکـال های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدها و تراوایی غشاء سلولی و در نتیجـه تراوایـی اسـمولیت هـا در گیاهـان حسـاس مـی‌شـود (۴۷). برخـی پژوهشگران محتوی MDA را به عنوان یک بیو مارکر می‌شناسند که میتواند نشانگر تنش عناصر سنگین باشد (۵۳). نتایج یانگ و همکاران (۵۱) نشان داد که متناسب با افزایش غلظت کادمیم از صـفر تـا ۵۰۰ میکرومـولار در محلـول غـذایی، افـزایش معنـی‌داری ($P>0.05$) در محتـوی مـالون دی آلدهیـد در گیـاه *Koelreuteria paniculata* مشاهده شد. در مطالعه حاضر نیز همراه با افزایش میـزان مـالون دی آلدهید کاهش عملکرد گیاه مشاهده شده است (شکل ۴).

نتایج پژوهشی در گیـاه *Pogonatherum crinitum* نشـان داد که در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب حـداکثر MDA وجـود داشته و در غلظت‌های بالاتر یعنی ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ کاهش پیدا کرده و از شاهد هم کمتر شده است. البته دلیل این اتفاق را فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی SOD و POD، در غلظت های بالاتر سـرب دانسـته است (۴۹). با این‌حال این پژوهش با نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضـر هماهنگ نبود.

در مطالعه حاضر اثر متقابل کادمیم و سـرب در گیـاه بادرنجبویـه نشان می‌دهد که بیشترین مقدار ثبـت شـده بـرای صـفت مـذکور در غلظت ۲۴ کادمیم و ۴۵۰ سرب و ۲۴ کادمیم و۳۰۰ سرب بـه ترتیـب با مقادیر ۶۱/۲۰ و ۵۹/۷۱ بوده و کمترین آن در غلظـت ۶ کـادمیم و ۱۵۰ سرب با مقدار ۲۸/۳۲ بدست آمده است (شکل ۴).

در بررسی که بر روی توت فرنگی انجـام شـد، بیشـترین میـزان مالون دی آلدهید در زمان حضور حداکثری غلظت‌هـای دو عنصـر در محیط مشاهده شد (۵۱). این نتایج با تحقیقـی دیگـر کـه بافیـل (۷) روی شاهی و ونگ و همکارن (۴۸) روی باقلا انجام دادنـد، مطابقـت داشته که خود تایید کننده‌ی نتایج مطالعه حاضر است.

پرولین

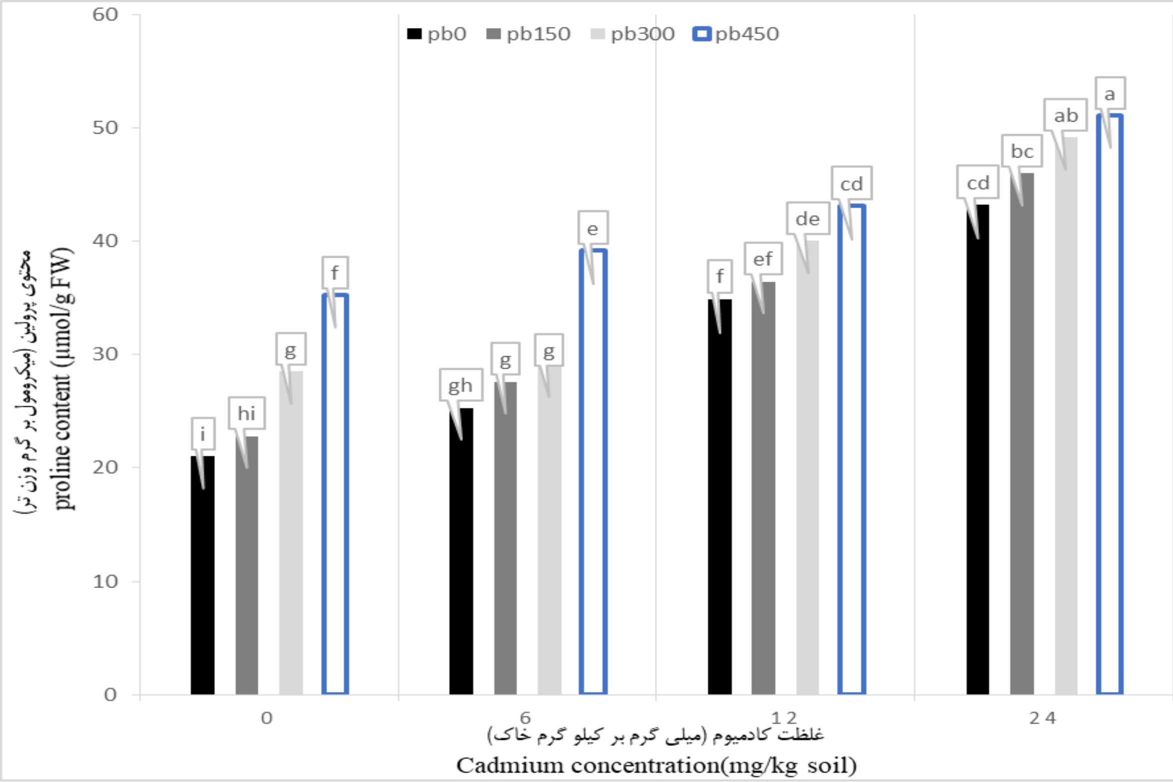
مقدار پرولین تحت تاثیر اثر ساده‌ی کادمیم، سـرب و اثـر متقابـل دوعنصر در سطح احتمال ۱درصـد قـرار گرفـت (جـدول ۱). محتـوی پرولین در گیاه تحت فعالیت و حضور عناصر در خاک قرار گرفتـه، بـه گونه‌ای که در حضور کـادمیم و سـرب در خـاک بـا افـزایش غلظـت کادمیم از شاهد به ۶، ۱۲و ۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، پرولین بـه ترتیب ۱۲ درصد و ۴۰ درصد و ۷۶درصد افزایش یافته، همچنـین در حضور سرب در خاک، با افزایش غلظت سرب، از شاهد به ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، پرولین به ترتیب ۰/۰۶ و ۱۷ و ۳۵ درصد افزایش یافته است، که حاکی از تاثیر بیشتر کادمیم نسـبت بـه سرب بر محتوی پرولین گیاه است (جدول ۲).

در بررسی اثر متقابل عناصر همانطور کـه در نمـودار ۴ مشـاهده می‌شود، بیشترین میزان پرولین مربوط به غلظـت ۲۴ کـادمیم و ۴۵۰ سرب با مقدار ۵۱/۰۴ بوده و کمترین میـزان پـرولین نیـز مربـوط بـه ترکیب غلظت ۶ کادمیم و۱۵۰ سـرب و ۶ کـادمیم و ۳۰۰ سـرب، بـه ترتیب با مقادیر ۲۷/۶۰ و ۲۹/۰۴ میکرو مول بر گرم وزن تر گیاه است (شکل ۳).

پرولین یک آمینو اسید است کـه معمـولا در شـرایط وجـود یـک استرس در گیاهان تجمع می‌یابد (۲). پژوهش‌های اخیر نشان داده که با افزایش غلظت سرب از صفر به ۵۰۰ پی‌پـی‌ام، محتـوی پـرولین در گیاه *Spinacea oleracea* افزایش یافته و این افزایش توسط سرب نسبت به کبالت و روی، بیشتر است (۱۸). افزایش پرولین متناسب بـا افزایش سرب و کادمیم در پژوهش‌هایی بـر روی لوبیـا (۲۷) و گوجـه فرنگی (۱۳) تایید کننده‌ی نتایج مطالعه حاضر است.

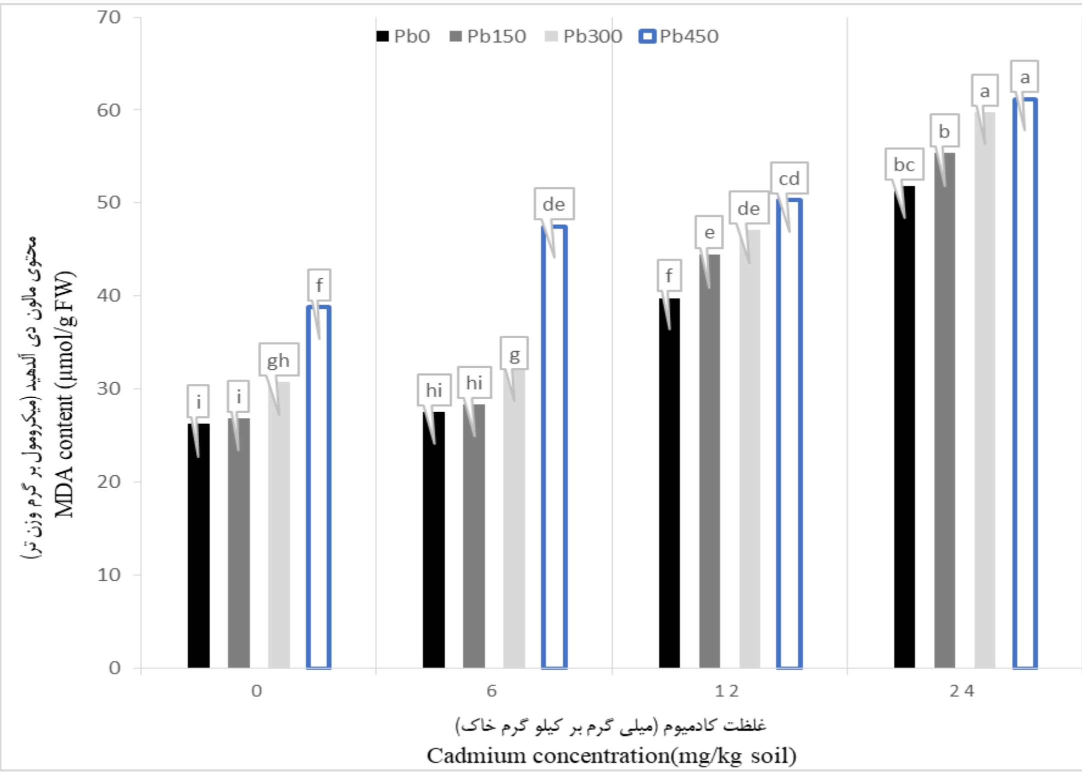
در پژوهشـی کـه دژبـان و همکـاران (۱۴) بـر گیـاه *Robinia pseudoacacia* انجام دادند، محتوی پرولین در تمامی غلظـت‌هـای سرب و کادمیم یعنی ۰،۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بـر لیتـر تغییر معنی‌داری را نشان نداد.

در نهایت می‌توان اینگونه بیان کرد که پرولین، با وجود اینکـه در گیاه به عنوان یک محافظ اسمزی و یک آنتی اکسیدانت و یک کلاته کننده‌ی فلز و تنظیم کننده در گیاه شناخته می‌شود، اما فعالیـت آن در برابر هر عنصر و در هر گیاه در جهت رفع مسمومیت ناشی از حضـور فلز، متفاوت است و می‌تواند به عنوان یـک مکانیسـم دفـاعی خـاص یک گیاه محسوب شود (۴۲).



شکل ۳- اثر متقابل کادمیم × سرب بر میزان پرولین (میکرومول بر گرم وزن تر) برگ گیاه بادرنجبویه

Figure 3- Interaction effect of Cd ×Pb on Prolin content (μmol.g^{-1} FW) of lemon balm leaf (LSD, *p≤0.01*)



شکل ٤- اثر متقابل کادمیم × سرب بر میزان مالون دی آلدهید (میکرومول بر گرم وزن تر) برگ گیاه بادرنجبویه

Figure 4- Interaction effect of Cd ×Pb on MDA content (μmol.g^{-1} FW) of lemon balm leaf (LSD, *p≤0.05*)

غلظت کادمیم و سرب در اندام هوایی و ریشه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر ساده کادمیم و سرب و اثر متقابل کادمیم و سرب بر صفت غلظت و غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه گیاه بادرنجبویه در سطح ۱درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). با افزایش غلظت عناصر سرب و کادمیم در محیط کشت، غلظت آن در اندام هوایی و ریشه افزایش یافته به طوری‌که با افزایش غلظت کادمیم از ۶ به ۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، غلظت کادمیم در اندام هوایی ۱۸۳ درصد افزایش یافت. این افزایش برای ریشه ۲۰۷ درصد گزارش شد (جدول ۲). همچنین بررسی نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش غلظت سرب در محیط کشت گیاه از ۱۵۰ به ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه به ترتیب ۲۳۶ و ۲۱۳ درصد افزایش یافت (جدول ۲). به نظر می‌رسد با افزایش کادمیم تمایل به افزایش جذب کادمیم در ریشه بیش از اندام هوایی است ولی دو قسمت ریشه و اندام هوایی به یک میزان جذب سرب را افزایش داده‌اند. مقدار کادمیم و سرب موجود در گیاهان بستگی به میزان کادمیم و سرب در بستر کشت و توانایی جذب این عناصر توسط گیاهان دارد (۴).

برخی تحقیقات نشان داده‌اند که اغلب فلزات تمایل دارند که در قسمت ریشه گیاهان باقی بمانند (۳). در بیشتر موارد غلظت عناصر سنگین در ریشه بیشتر از اندام هوایی است. در مطالعه حاضر نیز بیشترین غلظت کادمیم اندام هوایی و ریشه در غلظت ۲۴ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک مشاهده شد و بر اساس مقادیر اندازه‌گیری شده، غلظت این عنصر در ریشه بیش از بخش هوایی بود (جدول ۳). برای عنصر سرب نیز بیشترین غلظت این عنصر در اندام هوایی و ریشه مربوط به غلظت ۴۵۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک بود. با این حال برخی مطالعات نشان داده که مقدار تجمع در اندام هوایی، به ویژه برگ و ساقه، بیشتر از سایر اندام‌ها بوده و در دانه بسیار کمتر از برگ و ساقه می‌باشد (۵۰). حضور بیشتر سرب در ریشه به نسبت اندام هوایی می‌تواند به دلیل تحرک بسیار کم سرب در خاک باشد که در بیان رفتار فیزیولوژی عنصر، کم تحرکی شدید آن نسبت به کادمیم ذکر شده است (۲۰).

این نتایج با نتایج آزمایشات انجام شده بر گیاه گندم *Triticum aestivum* (۹) و بر گیاه ترتیزک خوک *Coronopus didymus* (۴۴) تایید کننده‌ی نتایج آزمایشات حاضر است.

به طور کلی افزایش یا کاهش عناصر در گیاه، می‌تواند به دلیل روابط آنتاگونیستی و سینرژیستی آن‌ها در محیط باشد، به عنوان مثال روابط سینرژیستی روی و کادمیم در غلظت‌های پایین کادمیم و آنتاگونیستی همین عناصر در غلظت بالای کادمیم که در گیاه اسفناج گزارش شد (۱۵)، همچنین از دیدگاه ناصر و همکاران (۳۲) می‌تواند تحت تاثیر شرایط خاک، گونه‌ی گیاهی و یا نوع فلز قرار گیرد.

بررسی اثر متقابل دو عنصر، نشان داد که حداکثر غلظت کادمیم در اندام هوایی و ریشه گیاه، در زمان عدم حضور سرب در محیط و حضور حداکثری کادمیم (۰-۲۴) بوده و کمترین آن در در غلظت ۶ کادمیم و ۴۵۰ سرب مشاهده شد (شکل ۳ و ۴). همچنین نشان داد که حداکثر غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه، در زمان عدم حضور کادمیم در محیط و حضور حداکثری سرب (۰-۴۵۰) بوده و کمترین آن در غلظت ۲۴ کادمیم و ۱۵۰ سرب مشاهده شد (جدول ۳). به نظر می‌رسد اثر بازدارندگی کادمیم در جذب سرب در اندام هوایی و ریشه، در سطح بالاتر کادمیم بیشتر است و بالعکس. در سطح بالای سرب (۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، کادمیم از غلظت ۶ میلی‌گرم بر کیلو گرم، گیاه را به سمت جذب کمتر سرب هدایت کرده است. در حالی که در سطح پایین سرب (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، بین غلظت های ۰ و ۶ و ۱۲ کادمیم، تفاوت معنی‌داری به لحاظ غلظت سرب در بخش هوایی و ریشه وجود نداشت (جدول ۳).

بررسی‌ها نشانگر این بوده که ترکیب دو عنصر در محیط کشت گیاه، منجر به ایجاد اثر متقابل (سینرژیستی یا آنتاگونیستی) دو عنصر می‌شود که در این مطالعه اثر پیچیده آنتاگونیستی حاکم بوده و البته برخی دیگر بر این عقیده اند که اثر متقابل دو عنصر، علاوه بر ایجاد جذب رقابتی بین دو عنصر، باعث پیچیده شدن فرایند کلاته کردن و تغییرات شدید در فعالیت آنزیمی می‌شود (۲۵).

فاکتور انتقال کادمیم در بادرنجبویه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که فاکتور انتقال کادمیم و سرب در گیاه بادرنجبویه، در اثر ساده کادمیم و اثر ساده سرب و اثر متقابل دو عنصر کادمیم و سرب در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). بیشترین مقدار فاکتور انتقال کادمیم ثبت شده در اثر ساده کادمیم، مربوط به غلظت ۶ کادمیم بود. همچنین بیشترین مقدار این پارامتر در اثر ساده سرب، در غلظت ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک گزارش شده است (جدول ۲).

فاکتور انتقال کادمیم از ریشه به اندام هوایی تحت تاثیر اثر متقابل کادمیم و سرب قرار گرفت ($P>0.05$). بیشترین مقدار ثبت شده برای فاکتور انتقال در بادرنجبویه تحت تیمار اثر متقابل سرب و کادمیم در تیمار ۱۲ کادمیم و ۴۵۰ سرب بوده و کمترین آن در تیمار ۶ کادمیم و صفر سرب گزارش شده است (شکل ۵). حضور کادمیم در محیط نیز منجر شد که بیشترین فاکتور انتقال سرب، در حضور کادمیم در تیمار ۲۴ کادمیم ثبت شود (جدول ۲).

اثر متقابل کادمیم و سرب نشان داد، در زمانی که سرب در محیط وجود دارد، کمترین‌های فاکتور انتقال گزارش شده و بیشترین آن مربوط به عدم حضو سرب در محیط بود (شکل ۵). فاکتور انتقال (TF) به عنوان یک پارامتر مهم و کلیدی، برای تعیین میزان تجمع عنصر سنگین در گیاه حساب می‌شود (۳۷).

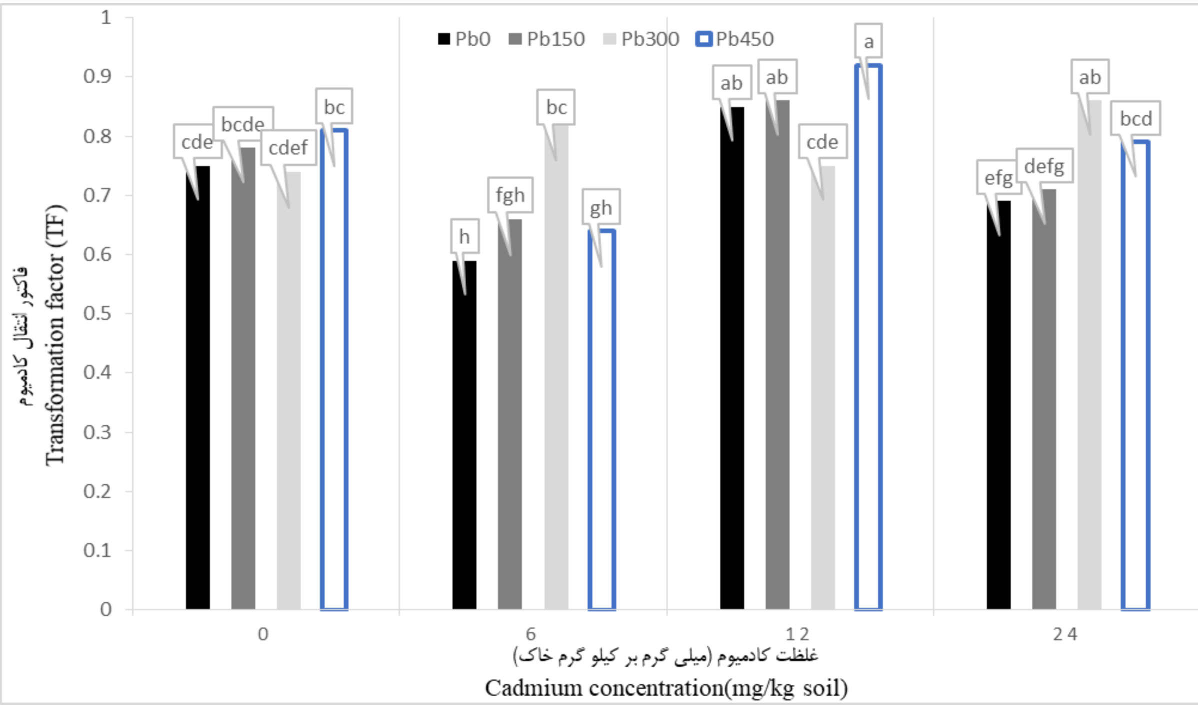
جدول ۳- اثرات متقابل سرب × کادمیم بر صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه بادرنجبویه

Table 3- Interaction effect of Cd ×Pb on morphophysiological traits of lemon balm.

کادمیم Cd ($mg.kg^{-1}$ soil)	سرب Pb ($mg.kg^{-1}$soil)	غلظت کادمیم در اندام هوایی Shoot Cd concentration ($\mu g.g^{-1}$ biomass)	غلظت کادمیم در ریشه Root Cd concentration ($\mu g.g^{-1}$ biomass)	فاکتور انتقال کادمیم TF(Cd)	غلظت سرب در ریشه Root Pb concentration ($\mu g.g^{-1}$ biomass)	غلظت سرب در اندام هوایی Shoot Pb concentration ($\mu g.g^{-1}$ biomass)
0	0	1^{g}	2.1^{k}	0.75^{cde}	4.3^{g}	3.1^{i}
	150	1^{g}	2.01^{k}	0.78^{bcde}	101^{e}	19.2^{fg}
	300	0.9^{g}	1.87^{k}	0.74^{cdef}	256^{bc}	37.2^{d}
	450	0.9^{g}	1.71^{k}	0.81^{bc}	312^{a}	68.2^{a}
6	0	7.14^{e}	18.98^{h}	0.59^{h}	4.3^{g}	3^{i}
	150	7.02^{e}	17.05^{hi}	0.66^{fgh}	0.8297^{ef}	17.36^{fgh}
	300	6.91^{e}	14.34^{ij}	0.82^{bc}	249^{c}	33.98^{de}
	450	4.16^{f}	11.84^{j}	0.64^{gh}	299^{a}	60.28^{b}
12	0	16.87^{b}	34.05^{e}	0.85^{ab}	4.1^{g}	3^{i}
	150	16.11^{b}	31.21^{f}	0.86^{ab}	86^{ef}	15.22^{gh}
	300	12.13^{c}	27.23^{g}	0.75^{cde}	221^{d}	29.77^{e}
	450	10.26^{d}	22.28^{h}	0.92^{a}	274^{b}	49.3^{c}
24	0	21.33^{a}	56.45^{a}	0.69^{efg}	3.7^{g}	2.6^{i}
	150	17.18^{a}	49.14^{b}	0.71^{defg}	78^{f}	12.35^{h}
	300	17.02^{a}	44.76^{c}	0.86^{ab}	201^{d}	21.47^{f}
	450	15.96^{a}	41.03^{d}	0.79^{bcd}	252^{c}	38.11^{d}

برای هر تیمار، حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD نمی‌باشد.

For each treatment, column means with the same letter are not significantly different by LSD test ($P< 0.05$)



شکل ۵- اثر متقابل کادمیم × سرب بر فاکتور انتقال در گیاه بادرنجبویه

Figure 5- Interaction effect of Cd ×Pb on Transformation factor (TF) in lemon balm (LSD, $p \le 0.05$)

در تحقیقی، برخی از سبزی‌ها شامل تربچه تحت آبیاری با پساب حاوی عناصر سنگین، دارای فاکتور انتقال از خاک به گیاه، بیشتر از یک برای کادمیوم بودند که نشان‌دهنده تحرک زیاد کادمیوم می‌باشد. در حالی که مقدار فاکتور انتقال برای سرب بسیار کم بود (۲۰).

علاوه بر این در پژوهشی ارتباط بین میزان کادمیم در خاک و جذب توسط ریشه و انتقال آن به اندام هوایی در چهار گیاه صیفی توسط کاشیف و همکاران نیز با یافته‌های آزمایش حاضر هماهنگ است (۲۳).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه به طور کلی نشان داد که کاهش فاکتورهایی مانند وزن خشک گیاه، میزان فتوسنتز، فلورسانس کلروفیل، تعرق و پروتئین و همچنین افزایش مالون دی آلدهید و پرولین نشانه‌های از سمیت کادمیم و سرب هستند. البته به دلیل تحرک بیشتر کادمیم در گیاه نسبت به سرب، سمیت حاصل از آن بیش از سرب بود. همچنین نتایج موجود حکایت از رابطه آنتاگونیستی دو عنصر مورد مطالعه دارد. بطوری‌که افزایش سرب توانست از میزان سمیت کادمیم بکاهد و همچنین افزایش کادمیم در محیط میزان سمیت سرب را کم کرد. بااینحال اثر بازدارندگی سرب بر سمیت کادمیم بیشتر بود.

همچنین نکته قابل تامل در این مطالعه افزایش درصد اسانس به ازای افزایش غلظت عناصر سنگین در محیط و همچنین عدم حضور کادمیم و سرب در اسانس بادرنجبویه بود که این مسئله گیاه مذکور را به عنوان کاندیدای مناسب جهت کشت در مناطق آلوده برای تولید محصول سالم معرفی می‌کند. با اینحال رسیدن به این نتیجه قطعی نیازمند مطالعات و بررسی‌های بیشتر است.

منابع

1- Abdel-Salam A.A., Salem H.M., and Seleiman M.F. 2015. Phytochemical Removal of Heavy Metal -Contaminated Soils. Heavy Metal Contamination of Soils. Springer International Publishing. 299-309.

2- Ahamed M., and Siddiqui M.K. 2007. Low level lead exposure and oxidative stress. Clinica Chimica Acta 383: 57-64.

3- Ali A., Deng X., Hu X., Gill R.A., Ali S., Wang S., and Zhou W. 2015. Deteriorative effects of cadmium stress on antioxidant system and cellular structure in germinating seeds of *Brassica napus* L. Journal of Agricultural Science and Technology 17: 63-74.

4- Alinezhad Jahromi H., Mohamadkhani A., and Salehi H. 2012. The Effect of Using Urban Wastewater of ShahreKord on Growth, Yield and Accumulation of Lead and Cadmium in Medicinal Plant Lemon Balm (*Melissa officinalis*). Water and Soil Science 16(60): 32-41

5- Alloway B. 1990. Heavy metals in soils. Blakie and Sons Ltd. London. Pp: 1-53.

6- Anusha W.A., Wickramasinghe d.l., and Valentine B.R. 2017. The effects of heavy metal concentration on bio-accumulation. Sri Lanka Journal of Aquatic Sciences 22(1): 1-8.

7- Bafeel S. 2010. Physiological and biochemical aspects of tolerance in *Lepidium sativum*, to lead toxicity. Egyptian Society for Environmental Sciences 5(1): 1-7.

8- Baker A.J.M., and Brooks R.R. 1989. Terrestrials higher plants which hyper accumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. Biorecovery 1: 81-26.

9- Boussen S., Soubrand M., Bril H., Ouerfelli K., and Abdeljaouad S. 2013. Transfer of lead, zinc and cadmium from mine tailings to wheat (*Triticum aestivum*) in carbonated Mediterranean (Northern Tunisia) soils. Geoderma 192: 227-236.

10- Broadley M.R., White P.J., and Hammond J.P. 2007. Zinc in plants. New Phytolgy 173: 677-702.

11- Burzynski M., and Klobu G. 2004. Changes of photosynthetic parameters in cucumber leaves under Cu, Cd, and Pb stress. Photosynthetica 42(4): 505-510.

12- Cosge B., Ipek A., and Gurbuz B. 2009. GC/MS analysis of herbage essential oil from lemon balms (*Melissa officinalis* L.) grown in Turkey. Journal of Applied Biological Sciences 3(2): 136-139.

13- De B., and Mukherjee A.K. 1998. Mercury induced metabolic changes in seedlings and cultured cells of tomato. Geobios 23: 83-88.

14- Dezhban T.A., Shirvany A., Attarod P., Delshad M., Matinizadeh M., and Khoshnevis M. 2015. Cadmium and lead effects on chlorophyll fluorescence, chlorophyll pigments and proline of *Robinia pseudoacacia*. Journal of Forestry Research 26(2): 323–329.

15- Dotaniya M.L., Rajendiran S., Vassanda M., Coumar V.D., Meena J.K., Saha S., Kundu A., and Kumar A. K. 2017. Interactive effect of cadmium and zinc on chromium uptake in spinach grown in Vertisol of Central India. International Journal of Environmental Science and Technology 15(1): 462-477.

16- Eisazadeh L, S., Asadi S., and Homaee M. 2015. Phytoextraction and estimating optimal time for remediation of Cd-contaminated soils by spinach (*Spinacia oleracea* L.). Journal of Agroecology 4(2): 916-926. (In Persian)

17- Elzbieta W.C., and Chwil M. 2005. Lead-induced histological and ultra structural changes in the leaves of soybeen (*Glycine max* (L) Meee.). Soil Sciences and Plant Nutrition 51: 203-212.

18- Geetha S.M., Sandeep A., and Gharge S. 2018. Effect of metal on germination and proline accumulation in *Spinacia olerci*. International Journal of Current Research in Life Sciences 7(3): 1376-1380.

19- Ghani A. 2010. Effect of cadmium toxicity on the growth and yield components of mungbean World Applied Sciences. Special Issue of Biotechnology and Genetic Engineering 8: 26-29.

20- Gupta S., Satpati S., Nayek S. and Garai D. 2010. Effect of wastewater irrigation on vegetables in relation to bioaccumulation of heavy metals and biochemical changes. Environmental Monitoring and Assessment, 165: 169-177.

21- Heath R.L., and Packer L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics

22- Hussein F.H., Khalife R.K.M., El-Mergawi R.A., and Youssef A.A. 2006. Utilization of Treated Municipal 342. P

23- Kashif S.R., Akram M., Yasee M., and Ali S. 2009. Studies on heavy metals status and their uptake by vegetables in adjoining areas of Hudiara drain in Lahore. Soil Environmental 28: 7-12.

24- Khan S., and Khan N.N. 1983. Influence of lead and cadmium on the growth and nutrient concentration of tomato (*Lycopersocum esculentum*) and egg plant (*Solanum melongena*). Plant and Soil 74: 387-394.

25- Li W., Mao R., and Liu X. 2005. Effects of stress duration and non toxicions on heavy metals toxicity to Arabidopsis seed germination and seedling growth. Ying Yong Sheng Tai Xue Bao 16:1943-7.

26- Lim J.M., M., Salido A.L., and Butcher D.J. 2004. Phytoremediation of lead using Indian mustard (*Brassica Juncea*) with EDTA and electrodics. Microchemical Journal 76: 3-9

27- Lippia H.B.K., Metwally A., Safronova V.I., Belimov A.A., and Dietz K.J. 2008. Genotypic variation of the response to cadmium toxicity in Pisum sativum. Journal of Experimental Botany 56: 167.

28- Mipapazoglou M. 2009. Foresight and research priorities for service oriented computing, in: Proceedings of the 11th International Conference on Enterprise Information Systems, Milan, Italy, pp. 5–6

29- Maxwell K., and Johnson G.N. 2005. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. Journal of Experimental Botany 51: 659-668.

30- Miladinova K., Markovska Y., Tzvetkova N., Ivanova K., Geneva M., and Georgieva T. 2014. Photosynthesis and growth response of two Paulownia hybrid lines to heavy metals Cd, Pb and Zn. Silva Balcanica 15: 83-99.

31- Moya J.L., Ros R., and Picazo I. 1993. Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants. Photosynthesis Research 36: 75-80.

32- Naser H.M., Shil N.C., Mahmud N.U., Rashid M.H. and Hossain K.M. 2009. Lead, cadmium and nickel contents of vegetables grown in industrially polluted and non-polluted areas of Bangladesh. Bangladesh Journal of Agrilcultural Research 34(4): 545-554.

33- Omidbeigi R. 2008. Production and processing of medicinal plants. Volume Three, Astan Quds Razavi Publications. (In Persian)

34- Pinto D., Fernandes A., Fernandes R., Mendes I., Pereira S., Vinha A., Herdeiro T., Santos E., and Machado M. 2011. Determination of heavy metals and other indicators in waters, soils and medicinal plants from Ave Valley, in Portugal, and its correlation to urban and industrial pollution. Science against microbial pathogens. In: A. Méndez-Vilas (ed.), communicating current research and technological advances. Spain. 303-309.

35- Pourghasemian N., Ehsanzadeh P., and Greger M. 2013a. Genotypic variation in safflower (*Carthamus* spp.) cadmium accumulation and tolerance affected by temperature and cadmium levels. Environmental and Experimental Botany 87: 218–226.

36- Pourghasemian N., and Ehsanzadeh P. 2013b. Evaluation of antioxidative responses to cadmium contamination of soil and its relationship with some physiological traits in safflower genotypes. Journal of Plant Process and Function 2(3): 15-31. (In Persian)

37- Puschenreiter M., and Horak O. 2000. Influence of different soil parameters on the transfer factor soil to plant of Cd, Cu and Zn for wheat and rye. Die Bodenkulture 51(1): 3-10.

38- Rai V., Vajpayee P., Singh S.N., and Mehrotra S., 2004. Effect of chromium accumulation on photosynthetic pigments, oxidative stress defense system, nitrate reduction, prolin level and eugenol content of *Ocimum tenuiflorum* L. Plant Science 167: 1159-1169

39- Romanowska E., Igamberdiev A., Parys E., and Gardestron P. 2002. Stimulation of respiration by Pb^{2+} ions in

detached leaves and mitochondria of C_3 and C4 plants. Plant Physiology 116: 148-154.

40- Sanita di Toppi L., and Gabbrielli R. 1999. Response to cadmium in higher plants. Environmental and Experimental Botany 41: 105-130.

41- Scavroni J., Sivia Fernandes Boaro C., Ortiz Mayo Marques M., and Cesar Ferreira L. 2005. Yield and composition of the essential oil of *Mentha piperita* L. (Lamiaceae) grown with biosolid. Brazilian Journal of Plant Physiology 17(4): 345-352.

42- Sharma S.S., and Dietz K.J. 2006. The significance of amino acids and amino acid derivedmolecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress, Journal of Experimental Botany 57: 711–726.

43- Shomali R., and khodaverdilo H. 2011. Contamination of Soils and Plants along Urmia-Salmas Highway (Iran) to Some Heavy Metals, Journal scince of water and soil. Volume 22, number 3.

44- Sidhu G.P., Singh H.P., Batish D.R., and Kohli R.K. 2017. Tolerance and hyperaccumulationof cadmium by a wild, unpalatable herb *Coronopus didymus* (L.) sm. (Brassicaceae). Ecotoxicology Environmental Safety 135: 209-215.

45- Skórzyńska-Polit E., and Baszyński T. 1997. Diferences in sensitivity of the photosynthetic apparatus in Cd-stressed runner bean plants in relation to their age. Plant Science. 128: 11-21.

46- Subrahmanyam D., and Rathore V.S. 2000. Influence of manganase toxicity on photosynthesis in ricebean (*Vigna umbellata*) seedlings. Photosynthetica 38: 449-453.

47- Turkan I., Bor M.O., zdemir F., and Koca H. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. Plant Science 168: 223-231.

48- Wang C., Tian Y., Wang X., Geng J., Jiang J., and Yu H. 2010. Lead-contaminated soil induced oxidative stress, defense response and its indicative biomarkers in roots of *Vicia faba* seedlings. Ecotoxicology 19: 1130–1139.

49- Xiaolong H., Hang H., Liping C., Aiqin L., Xiangqing M., Chuifan Z., Guo W., and Fanrui M. 2018. Pb stress effects on leaf chlorophyll fluorescence, antioxidative enzymeactivities, and organic acid contents of Pogonatherum crinitum seedlings. Flora 240: 82–88.

50- Yaghoubian Y., Sayadat A., Moradi M., and Pirdashti H. 2016. Quantitative response of vegetative growth and chlorophyll components of the medicinal plant lemonbalm (*Melissa officinalis* L.) To the concentration of cadmium in the soil. Journal of Plant Production Research Volume 23. Number 2. (In Persian)

51- Yong Z., Hao-Ru T., and Ya L. 2008.Variation in antioxidant enzyme activities of two strawbreey cultivars with shortterm low temperature stress. Journal of Agricultural Sciences 4: 456-462.

52- Žaltauskaitė1 J., Mikalaikevičiūtė1 L., Sujetovienė G., and Miškelytė D. 2017. Evaluation of heavy metals binary metals mixtures toxicity on spring barley Hordeumvulgare. International Conference on Environmental Science and Technology Rhodes, Greece.

53- Zheljazkov V.D., Craker L.E., and Xing B. 2006. Effects of Cd, Pb and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint, and basil. Environmental and Experimental Botany 58(1): 9-16.

54- Zheljazkov V.D., and Nielson N.E. 1996a. Effect of heavy metals on peppermint and cornmint. Plant and Soil 178: 59– 66.

55- Zheljazkov V., and Nielsen N.E. 1996b. Studies on the effect of heavy metals (Cd, Pb, Cu, Mn, Zn and Fe) upon the growth, productivity and quality of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill) production. J. Essent. Oil Res 8, 259–274.

56- Zlatev Z., and Yordanov T. 2004. Effect of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. Bulg. Journal of Plant Physiology 30(3-4): 3-18.

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 235-251
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۵۱-۲۳۵
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Investigating the Effect of Cadmium and Lead on Growth Parameters and Quality Characteristics of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.)

S.M.B. Razavinia[1]- N. Pourghasemian[2*]- F. Najafi[3]
Received: 25-04-2020
Accepted: 21-02-2021

Introduction: Pollution of the biosphere with toxic levels of metals has accelerated dramatically since the beginning of the industrial revolution. Soil pollution by heavy metals including cadmium (Cd) and lead (Pb) is a global problem, which can cause agricultural lands to become hazardous for wildlife and human populations. Accumulated Cd and Pb in their roots and shoots may also be negatively affect their photosynthesis, growth, and reproduction. Cd and Pb uptake and their effects on plants may be influenced by a variety of factors, e.g. the plant species, cultivar, soil characteristics and etc. Heavy metals such as Cd and Pb may cause the formation of reactive oxygen species (ROS), damage plant tissue membranes, and inhibit photosynthesis, carbon dioxide assimilation, and growth. Photosynthesis is the fundamental process of energy metabolism and therefore, closely related to the plants growth and productivity. However, it is a sensitive process and an important target of environmental stresses. Plants counteract the harmful effects of heavy metals by a variety of protective mechanisms including immobilization, exclusion, chelation, compartmentalization, osmotic regulation and elevating antioxidant system.

Lemon balm (*Melissa officinalis* L.) is a widely grown aromatic and medicinal plant of the Labiatae family. The plant has various therapeutic properties and is also used to flavor different food products due to its particular taste. Little scientific data exist on the response of this medicinal plant to Cd and Pb stress. Therefore, the objective of this work was to investigate the biological and physiological responses of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) under cadmium and lead stress conditions.

Materials and Methods: A factorial randomized complete block design experiment with four replications was used to study the effect of Cd in four concentrations (0, 6, 12 and 24 $mg.kg^{-1}$ soil) as well as Pb in four concentrations (0, 150 300 and 450 $mg.\ Kg^{-1}$ soil). Before harvesting, chlorophyll fluorescence, photosynthetic and transpiration rates were measured with fluorescence meter and photosynthetic meter, respectively. Thereafter, plants were harvested and the roots were washed in distilled water. Then, half of the plants were separated into roots and shoots, which were dried at 105 °C for 24 h to determine the dry weight, Cd and Pb concentrations, Cd transfer factor and essential oil content. The other half of the plants were separated into roots and shoots, kept in liquid nitrogen, and then stored in freezer for one week to determine proline and shoot MDA concentrations. Data were subjected to two-way analysis of variance (ANOVA) and the difference between means was compared using LSD test. A significance level of 95% was applied by SAS 9.2.

Results and Discussion: According to the results, root and shoot dry weight, protein content, photosynthetic rate, transpiration rate and chlorophyll fluorescence were decreased by increasing Cd and Pb concentrations. However, Cd concentration decreased these traits more than Pb. The shoot MDA concentration, essential oil and proline content were enhanced by increasing Cd and Pb concentrations. The combination of two pollutants (Cd and Pb) together reduces the negative impact of each element alone. Shoot and root Cd and Pb concentrations were increased by increasing Cd and Pb concentrations. The interaction effect of Cd×Pb application showed that increasing Cd concentration decreased root and shoot Pb concentrations and increasing Pb concentration decreased root and shoot Cd concentrations. Cd and Pb were not detected in essential oil. Moreover, the Cd transfer factor was increased with increasing Pb concentration under high Cd concentration levels (12 and 24 $mg.kg^{-1}$).

Conclusion: This study demonstrated that Cd toxicity is more than Pb toxicity due to its high mobility.

1 and 3- Master Graduate and Assistant Professor of Department of Agriculture, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti, Tehran, Iran, respectively.
2- Assistant Professor, Department of Plant Productions, Agricultural Faculty of Bardsir, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran
(*- Correspondivg Author Email: N.pourghasemian@uk.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2021.61820.0

There was an antagonistic relationship between Cd and Pb. Furthermore, due to the absence of Cd and Pb in the essential oil, lemon balm may be a suitable plant for areas contaminated with heavy metals especial Cd and Pb.

Keywords: Chlorophyll fluorescence, Essential oil, Proline, Protein, Transpiration rate